

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



16290

(43) Date de la publication internationale  
29 août 2002 (29.08.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 02/066000 A2**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : A61K 7/48

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR02/00487

(22) Date de dépôt international : 7 février 2002 (07.02.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
01 02441 21 février 2001 (21.02.2001) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : SE-  
DERMA [FR/FR]; 29 rue du Chemin Vert, BP 33, F-78612  
Le Perray-en Yvelines CEDEX (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) : LINTNER,  
Karl [FR/FR]; 69 rue de L'assomption, -, F-75016 Paris  
(FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,

DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,  
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN,  
YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet  
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet  
européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR,  
IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ,  
CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,  
TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée  
dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.



WO 02/066000 A2

(54) Title: NOVEL COSMETIC SLIMMING COMPOSITIONS CONTAINING BOLDINE

(54) Titre : NOUVELLES COMPOSITIONS COSMETIQUES AMINCISSANTES CONTENANT DE LA BOLDINE

(57) Abstract: The invention relates to the use of boldine of any origin (synthesis, vegetable extraction, biotechnology, genetic engineering, etc.), on its own or combined with other active agents, in cosmetic or dermopharmaceutical compositions for the prevention of and/or slimming treatment for excess weight on the thighs and hips, the treatment of cellulite and skin toning.

(57) Abrégé : L'invention concerne l'utilisation de boldine, de quelque origine que ce soit (synthèse, extraction végétale, biotechnologie, génie génétique...), seule ou en association avec d'autres actifs, dans des compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques pour la prévention et/ou pour le traitement amincissant des surcharges pondérales des cuisses et des hanches, le traitement de la cellulite et le raffermissement cutané.

**TITRE** Nouvelles compositions cosmétiques amincissantes contenant de la boldine.

Pour lutter efficacement contre les bourrelets et capitons, les consommatrices poussent l'industrie cosmétique au développement d'actifs de plus en plus performants.

Après la génération des actifs amincissants basés sur une activation directe de la lipolyse via l'inhibition de la phosphodiesterase (caféine par exemple), on a vu l'émergence de produits plus sophistiqués s'adressant soit à la stimulation des récepteurs membranaires et à leurs systèmes de transduction intracellulaire (protéine G), soit à leur inhibition (récepteurs alpha et neuropeptide Y).

Toutes ces approches visent à augmenter le taux d'AMPc intracellulaire, lui-même indispensable pour activer la libération de glycérol via la lipase (LHS) adipocytaire: par ce biais, il se produit un déstockage de matériel lipidique cellulaire, et donc, une diminution du volume de la cellule.

Or il peut exister une voie alternative originale et même opposée aux système favorisant l'augmentation du pool intracellulaire d'AMPc dans le but de stimuler la lipolyse.

Le rôle central joué par le calcium intracellulaire dans le métabolisme du pré-adipocyte et de l'adipocyte mature est un phénomène bien documenté et il est clair que le  $Ca^{++}$  intervient de plusieurs façons différentes dans l'installation de la masse graisseuse. Alors que celui-ci, par un flux entrant, inhibe la différenciation initiale des pré-adipocytes en diminuant le stockage des triglycérides, il joue un rôle contraire dans la phase terminale de différenciation ainsi que dans l'adipocyte mature en favorisant la lipogénèse. Pour comprendre ce phénomène il faut savoir qu'il existe une liaison structurale et fonctionnelle entre les sites membranaires de l'entrée calcique et l'adénylate cyclase.

En bloquant l'entrée du calcium, on favorise la phase initiale de différenciation car on lève alors l'inhibition de post-mitose calcium-dépendante, et on défavorise la phase terminale de différenciation en bloquant la lipogénèse.

Il est bien connu en Pharmacologie qu'un flux entrant de calcium favorisé par la norepinéphrine (agoniste  $\alpha$ -adrénergique) peut être bloqué par des antagonistes  $\alpha_1$  tels que la prazosine et dans une moindre mesure par des antagonistes  $\beta$ -adrénergiques. On sait par ailleurs, qu'au sein d'une population adipocytaire, plus  
5 de 60% des cellules expriment les récepteurs  $\alpha_1$  et  $\beta_1$ -adrénergiques.

Ce blocage par des antagonistes adrénergiques se traduit au niveau du pré-adipocyte et de l'adipocyte, par une diminution des marqueurs de différenciation que sont la glycerol-3 phosphate déshydrogénase (G3DPH) et le "*peroxisome proliferator-activated receptor gamma*" (PPAR $\gamma$ ), ainsi que par la diminution du  
10 stockage des triglycérides.

Un autre aspect de l'invention faisant l'objet de ce brevet consiste dans le fait que, parmi de nombreuses molécules et extraits végétaux testés (sur la base de l'état actuel des connaissances quant aux possibles interactions avec notre hypothèse), sur le mécanisme décrit ci-dessus et spécialement sur l'expression du G3DPOH,  
15 nous avons découvert qu'un extrait de *Peumus boldus Mol*, également dénommé *Boldo*, ou encore un extrait de *Laurelia novae-zealandiae*, présentaient une activité remarquable sur ce test.

*Peumus boldus Mol.*, de la famille des Monimiaceae, est un arbrisseau chilien dont les légendes locales relatent que ses effets bénéfiques ont été découverts par hasard  
20 un jour où l'on avait parqué des moutons malades du foie dans un enclos de fortune fait de branchages frais de boldo. Les animaux qui ont dévoré les feuilles ont été guéris.

Cet arbrisseau, toujours vert, pousse spontanément sur les collines sèches et ensoleillées du Chili. Le Boldo est très apprécié dans cette contrée où l'on mange  
25 l'amande de ses fruits, ses feuilles sont utilisées comme condiment, l'écorce sert dans la tannerie et le bois donne un charbon particulièrement estimé. Les feuilles constituent la partie médicinale.

Traditionnellement, les Indiens des Andes ont toujours attribué aux feuilles des propriétés stomachiques et digestives. Elles contiennent de la boldine qui stimule la  
30 sécrétion de l'évacuation de la bile permettant ainsi une meilleure digestion.

Jusqu'à maintenant, la boldine est exclusivement utilisée dans des médicaments et préparations à visées hépato-digestive, cholagogue et quelquefois pour soulager la sécheresse de la bouche.

Dans l'extrait végétal, de quelque partie de la plante que ce soit, nous avons  
5 découvert que la molécule active, responsable de l'activité revendiquée dans cette demande de brevet, était la boldine.

Pour obtenir l'effet décrit dans ce brevet, la boldine utilisable dans les compositions cosmétiques et dermopharmaceutiques, peut être obtenue par synthèse chimique, enzymatique, par l'une des nombreuses méthodologies de la biotechnologie, par  
10 extraction végétale ou par tout autre moyen utilisable permettant son obtention à des coûts raisonnables dans le produit fini pour pouvoir être utilisée industriellement.

Dans le cas d'une obtention d'origine végétale, il est évident que toute espèce végétale peut convenir à partir du moment où l'extrait, obtenu à partir d'une  
15 quelconque partie de l'organisme végétal, contient de la boldine comme, par exemple, *Peumus boldus* Mol. ou *Laurelia novae-zealandiae*.

Afin d'illustrer cette demande de brevet, nous nous bornerons à décrire une extraction typique de boldine à partir de *Peumus boldus* Mol.

Dans 500 ml d'un mélange (50 %/50 %, v/v) eau/éthanol, on introduit 50 grammes  
20 de la plante broyée et l'on met sous agitation pendant 1 heure à température ambiante.

On procède alors, à température ambiante, à trois filtrations successives:

- Filtration Nylon 100µm pour obtenir un filtrat marron trouble,
- Filtration WRJ 2% de terres diatomées pour obtenir un jaune vert limpide,
- 25 ➤ Filtration finales 1.2 µm après laquelle on obtient un extrait jaune doré limpide.

Les dosages de boldine, réalisés soit par HPLC soit par HPTLC, montrent des concentrations, variables en boldine selon les origines et les saisons de cueillette, comprises entre 0,01 et 100 %, le plus souvent entre 0,1 et 10%.

Le protocole ci-dessus n'est pas limitatif et il est possible d'utiliser d'autres solvants  
30 d'extraction pouvant être choisis parmi l'eau, le propylène glycol, le butylène

glycol, la glycérine, le polyéthylène glycol, les éthers méthyliques et/ou éthyliques des diglycols, les polyols cycliques, les diglycols éthoxylés ou propoxylés, les alcools (méthanol, éthanol, propanol, butanol), ou tout mélange de ces solvants.

Par ailleurs, il est possible de réaliser des extraits de *Peumus boldus* Mol par  
 5 d'autres procédés comme, par exemple, la macération, la simple décoction, la lixiviation, l'extraction sous reflux, l'extraction supercritique, l'extraction au moyen d'ultrasons ou de micro-ondes ou enfin au moyen de techniques à contre courant, sans que cette liste soit limitative.

L'incorporation des extraits de boldine, ou de boldine de quelque provenance que  
 10 ce soit, dans les compositions cosmétiques est réalisée par tout type de procédé classiquement utilisé en Cosmétologie et en Dermopharmacie.

Sans être limitatifs, les trois exemples suivants donnent des utilisations possibles des extraits obtenus.

**Exemple N° 1: Gel amincissant**

15	Carbopol <sup>R</sup> 1342	0,3
	Propylène glycol	2
	Glycérine	1
	Vaseline blanche	1,5
	Cylomethicone	6
20	Alcool cétylique	0,5
	Lubrajel® MS	10
	Triéthanolamine	0,3
	Boldine	0,3
	Eau, conservateurs, parfum	qsp 100 g.

25 **Exemple N°2: Crème amincissante**

	Brij <sup>R</sup> 721	2,4
	Volpo <sup>R</sup> S72	2,6
	Prostéayl-15	8,0
	Cire d'abeille	0,5
30	Abil <sup>R</sup> ZP 2434	3,0

	Propylène glycol	3,0
	Carbopol® 941	0,25
	Triéthanolamine	0,25
	Boldine (extrait de <i>Laurelia novae-zealandiae</i> )	0,5
5	Eau, conservateurs, parfums	qsp 100 g
	<u>Exemple N°3: Lotion alcoolique</u>	
	Ethanol	5.0
	Propylène glycol	2.0
	Abil® B8851	0.5
10	Eumulgin® L	0.6
	Boldine (extrait de <i>Peumus boldus</i> Mol)	0,5
	Eau, conservateurs, parfum	qsp 100 g

L'exemple suivant montre l'activité *in vitro* sur le stade précoce de la différenciation des pré-adipocytes.

15 Exemple 4 Inhibition de la lipogénèse in vitro

Le test suivant est basé sur le fait que des fibroblastes 3T3 L1, en culture, ont la particularité de se différencier sous l'action d'un cocktail de substances (messagers hormonaux), en pré-adipocytes puis en adipocytes chargés de lipides.

La culture se déroule en trois étapes:

- 20
- multiplication cellulaire jusqu'à confluence,
  - après ajout du cocktail de différenciation au cours de laquelle on obtient les pré-adipocytes initiaux (72 heures),
  - différenciation active avec stimulation de la lipogénèse (environ 72 heures) à la fin de laquelle le stockage apparent en gouttelettes lipidiques est alors
- 25 nettement visible au microscope.

L'enzyme G-3-DPH (Glycérol-3-Phosphodéshydrogénase), indispensable à la synthèse de triglycérides est exprimée très fortement pendant cette étape active de stockage lipidique.

Le produit à tester est ajouté à la deuxième étape.

A l'issue de la période d'incubation on compare l'activité G3DPH entre les pré-adipocytes témoins et ceux incubés en présence du produit testé.

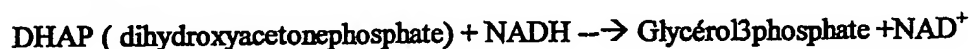
Dans ces conditions, un produit qui inhibe la lipogénèse provoque une baisse de l'activité G3DPH.

#### 5 **Protocole suivi**

Après la différenciation provoquée, on ajoute à la culture des pré-adipocytes, la solution à tester, extrait végétal ou solution de boldine de quelque provenance que ce soit. Deux cultures témoins, l'une en témoin négatif et l'autre en témoin positif sont menées en parallèle.

10 En fin d'incubation, les cellules sont prélevées et lysées et le test est effectué sur le contenu intracellulaire.

L'activité G3DPH est mesurée par disparition du NADH ( $\lambda = 340 \text{ nm}$ ) par la réaction suivante :



#### 15 **Inhibition de l'activité G3DPH**

Le tableau suivant montre les moyennes des mesures (inhibition - en % du témoin - de l'activité G-3-PDH en culture de pré-adipocytes traitée par la boldine) réalisées sur 5 essais indépendants les uns des autres. Les valeurs de l'activité enzymatique sont normalisées au nombre de cellules.

20	ACTIVITE G3DPH / $10^6$ cells			
	Contrôle positif	59,3%	±	6,3
	Boldine - 300 ppm	24,0 %	±	4,5
	Boldine - 600 ppm	32,6 %	±	4.1
	Boldine - 800 ppm	63,0 %	±	3.3
25	Boldine - 1000 ppm	88,6 %	±	1.9

Ces résultats démontrent clairement l'effet de la boldine sur l'activité G-3-PDH. puisqu'une inhibition de la G-3-PDH de 88% environ est obtenue en présence de seulement 1% de boldine, et cela, quelle que soit l'origine de la boldine.

De plus, cet effet est incontestablement concentration-dépendant, ce qui prouve que c'est bien aux extraits testés ou à la solution de boldine testée que l'on peut attribuer l'effet observé.

L'inhibition très importante de la G3DPH démontre le pouvoir inhibiteur de la  
5 boldine sur la lipogénèse dans les préadipocytes.

#### *Morphologie des préadipocytes*

La morphologie des cellules au microscope montraient une population adipocytaire avec peu d'inclusions lipidiques par rapport aux cellules témoins.

Dans la composition cosmétique ou dermopharmaceutique, il peut être avantageux  
10 d'associer la boldine, de quelque origine que ce soit (synthèse chimique, enzymatique, par l'une des nombreuses méthodologies de la biotechnologie, par extraction végétale ou par tout autre moyen utilisable permettant son obtention à des coûts raisonnables dans le produit fini pour pouvoir être utilisée industriellement), avec d'autres actifs, tels que la caféine, afin de renforcer son effet  
15 par additivité ou synergie entre les effets de ces différents produits, ou afin d'associer l'effet décrit dans cette demande de brevet avec un autre effet physiologique bénéfique au niveau cutané, des muqueuses, des phanères (ongles, poils et cheveux).

Dans le cas d'une origine végétale, la boldine est obtenue à partir d'une quelconque  
20 famille ou espèce à partir du moment qu'elle contient de la boldine, comme, par exemple, *Peumus boldus* Mol ou *Laurelia novae-zealandiae*.

Dans le cas d'une origine végétale, la concentration de boldine dans l'extrait peut varier entre 0,01 et 100 %, le plus souvent entre 0,1 et 10% (p/p).

Dans le cas d'obtention de la boldine par quelque procédé que ce soit (synthèse  
25 chimique, biotechnologie, génie génétique ...), la pureté maximale sera toujours recherchée.

Dans la composition cosmétique ou dermopharmaceutique finie, la concentration de boldine, de quelque origine que ce soit, peut varier entre 0.01 % et 50 % (p/p), préférentiellement entre 0,1 % et 10 % (p/p).



La boldine, de quelque origine que ce soit, seule ou en association avec d'autres actifs, est utilisée dans toute forme galénique employée en cosmétique ou dermopharmacie: émulsions H/E et E/H, laits, lotions, pommades, lotions capillaires, shampooings, savons, sticks et crayons, sprays, huiles corporelles, sans  
5 que cette liste soit limitative.

La boldine, de quelque origine que ce soit, est utilisée sous forme de solution, de dispersion, d'émulsion, ou encapsulé dans des vecteurs comme les macro-, micro- ou nanocapsules, des liposomes ou des chylomicrons, ou inclus dans des macro-, micro- ou nanoparticules, ou dans des microéponges, ou adsorbé sur des  
10 polymères organiques poudreux, les talcs, bentonites et autres supports minéraux.

La boldine, de quelque origine que ce soit, seule ou en association avec d'autres actifs, est incorporée dans tout autre ingrédient habituellement utilisé: lipides d'extraction et/ou de synthèse, polymères gélifiants et viscosants, tensioactifs et émulsifiants, principes actifs hydro- ou liposolubles, extraits végétaux, extraits  
15 tissulaires, extraits marins, filtres solaires, antioxydants.

La boldine, de quelque origine que ce soit, seule ou en association avec d'autres actifs, est utilisée dans des compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques; pour la prévention et/ou pour le traitement amincissant des surcharges pondérales des cuisses et des hanches, le traitement de la cellulite et le raffermissement cutané.

20 La boldine, de quelque origine que ce soit, seule ou en association avec d'autres actifs, est incorporée dans des compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques pour la préparation d'un médicament utilisé pour la prévention et/ou pour le traitement amincissant des surcharges pondérales des cuisses et des hanches, le traitement de la cellulite et le raffermissement cutané.

25 La boldine, de quelque origine que ce soit, seule ou en association avec d'autres actifs, est incorporée dans des compositions cosmétiques ou dermopharmaceutiques, liés ou incorporés ou absorbés ou adsorbés sous forme de macro-, micro- et nanoparticules ou dans des macro-, micro- et nanocapsules, dans les textiles, fibres synthétiques ou naturelles, laines et tout matériaux susceptibles  
30 d'être utilisé pour réaliser des vêtements et sous-vêtements de jour ou de nuit,

directement au contact de la peau ou de des cheveux pour en permettre une délivrance topique continue.

### REVENDICATIONS

1. Compositions amincissantes et anti-cellulite caractérisées en ce qu'elles contiennent de la boldine.
2. Compositions amincissantes et anti-cellulite selon la revendication 1, caractérisées en ce que la boldine est obtenue par extraction végétale, 5 préférentiellement à partir de *Peumus boldus* Mol. ou *Laurelia novae-zealandiae*.
3. Compositions amincissantes et anti-cellulite selon l'une quelconque des revendications 1 à 2, caractérisées en ce que l'extraction végétale est effectuée 10 avec des solvants choisis parmi l'eau, le propylène glycol, le butylène glycol, la glycérine, le polyéthylène glycol, les éthers méthyliques ou éthyliques des diglycols, les polyols cycliques, les diglycols éthoxylés ou propoxylés, les alcools (méthanol, éthanol, propanol, butanol), ou tout mélange de ces solvants.
- 15 4. Compositions amincissantes et anti-cellulite selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisées en ce que la teneur en boldine varie entre 0.01% et 100%, préférentiellement entre 0.1 et 10%.
5. Compositions cosmétiques et dermopharmaceutiques à visée amincissante et anti-cellulite caractérisées en ce qu'elles renferment une composition selon 20 l'une quelconque des revendications 1 à 4.
6. Compositions cosmétiques et dermopharmaceutiques à visée amincissante et anti-cellulite selon la revendication 5, caractérisées en ce que la composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 est utilisée à une concentration comprise entre 0.1 et 50%, préférentiellement entre 1 et 10%.
- 25 7. Compositions cosmétiques et dermopharmaceutiques à visée amincissante et anti-cellulite selon l'une quelconque des revendications 5 ou 6 caractérisées en ce qu'elles se présentent sous toute forme galénique employée en cosmétique ou dermopharmacie: émulsions H/E et E/H, laits, lotions, pommades, lotions capillaires, shampooings, savons, sticks et crayons, sprays, huiles corporelles.

8. Compositions cosmétiques et dermopharmaceutiques à visée amincissante et anti-cellulite selon l'une quelconque des revendications 5 à 7 caractérisées en ce que la composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 est incorporée dans des vecteurs cosmétiques comme les liposomes, les chylomicrons, les macro-, micro- et nanoparticules ainsi que les macro-, micro- et nanocapsules, de les absorber sur des polymères organiques poudreux, les talcs, bentonites et autres supports minéraux.
9. Compositions cosmétiques et dermopharmaceutiques à visée amincissante et anti-cellulite selon l'une quelconque des revendications 5 à 8 caractérisées en ce que la composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 est utilisée avec tout autre ingrédient habituellement utilisé en cosmétique: lipides d'extraction et/ou de synthèse, polymères gélifiants et viscosants, tensioactifs et émulsifiants, principes actifs hydro- ou liposolubles, en particulier la caféine, extraits d'autres plantes, extraits tissulaires, extraits marins.
10. Utilisation des compositions selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 ou des compositions cosmétiques selon l'une quelconque des revendications 5 à 9 pour la préparation de médicaments pour la prévention et/ou pour le traitement amincissant des surcharges pondérales des cuisses et des hanches, le traitement de la cellulite et le raffermissement cutané.
11. Utilisation des compositions selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 ou des compositions cosmétiques selon l'une quelconque des revendications 5 à 9, liées ou incorporées ou absorbées ou adsorbées sous forme de macro-, micro- et nanoparticules ou dans des macro-, micro- et nanocapsules, dans les textiles, fibres synthétiques ou naturelles, laines et tout matériaux susceptibles d'être utilisé pour réaliser des vêtements et sous-vêtements de jour ou de nuit, directement au contact de la peau ou de des cheveux pour en permettre une délivrance topique continue.